



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 36 262.9

Anmeldetag: 7. August 2002

Anmelder/Inhaber: Aventis Pharma Deutschland GmbH,
Frankfurt am Main/DE

Bezeichnung: Polyisoprenyl-benzophenon-Derivate, Verfahren zu
ihrer Herstellung und Verwendung derselben

IPC: C 07 C 49/835

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 10. März 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'mm' with a small flourish.

Joost

Polyisoprenyl-benzophenon-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und

5 Verwendung derselben

Zur Behandlung von bakteriellen Infektionskrankheiten wird eine große Zahl von Antibiotika eingesetzt. Die Krankheitserreger werden aber zunehmend resistent gegen die verwendeten Arzneimittel, und es droht eine große Gefahr durch

10 sogenannte multiresistente Keime, die nicht nur gegen einzelne Antibiotikagruppen, wie z.B. β -Lactam-Antibiotika, Glycopeptide oder Macrolide widerstandsfähig geworden sind, sondern gleichzeitig mehrere Resistenzen tragen. Es gibt sogar Krankheitserreger, die gegen alle im Handel erhältlichen Antibiotika resistent geworden sind. Infektionskrankheiten, die durch solche Keime verursacht werden, sind nicht mehr therapierbar. Deshalb gibt es einen großen Bedarf an neuen Mitteln, die gegen resistente Keime eingesetzt werden können. Es sind zwar in der Literatur viele Tausend antibiotisch aktive Verbindungen beschrieben worden, die meisten sind jedoch zu toxisch, um als Arzneimittel eingesetzt werden zu können.

20 Es ist bereits eine Anzahl von Substanzen des Polyisoprenyl-benzophenon-Typ beschrieben worden. Es handelt sich dabei hauptsächlich um aus Pflanzen isolierte Substanzen.

25 Rama Rao et al. (Tetrahedron Lett., 1980, 21, 1975-1978) beschreiben das Camboginol und das Cambogin, die aus *Garcinia gambogia* isolierbar sind, und für die keine pharmakologische Wirkung beschrieben wurde.

Fuller et al. (J. Nat. Prod., 1999, 62, 130-132) beschreiben die Verbindung Guttiferone F, die HIV-inhibierend wirkt.

30

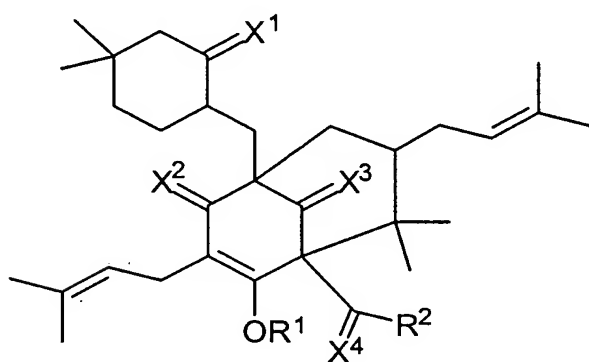
Lokvam et al. (Phytochemistry, 2000, 55, 29-34) beschreiben die Verbindungen Chamone I bzw. Nemorosone II als wirksam gegen bestimmte Bienen-pathogene Bakterien.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, alternative Verbindungen vom Polyisoprenyl-benzophenon-Typ mit verbesserten pharmakologischen Wirkungen bereitzustellen.

- 5 Es wurde überraschend gefunden, daß die Pflanze *Garcinia punctata* aus der Familie der Clusiaceae neuartige Verbindungen zu bilden vermag, die insbesondere gegen human-pathogene Bakterien wirksam sind.

Die Erfindung betrifft daher eine Verbindung der Formel (I)

10



(I)

wobei

15 R¹

H, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl oder C₅-C₁₄-Aryl bedeutet, worin Alkyl, Alkenyl, Alkynyl und Aryl unsubstituiert oder ein- bis dreifach durch einen Rest R³ substituiert sind,

20 R²

C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl oder C₅-C₁₄-Aryl bedeutet, worin Alkyl, Alkenyl, Alkynyl und Aryl unsubstituiert oder n-fach durch einen Rest R³ substituiert sind, wobei n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, und

25

R³

–OH, =O, –O-C₁-C₆-Alkyl, –O-C₂-C₆-Alkenyl, –O-C₅-C₁₄-Aryl, –NH-C₁-C₆-Alkyl, –NH-C₂-C₆-Alkenyl, –NH[–C(=O)–(C₁-C₆-Alkyl)], –NH[–C(=O)–(C₅-C₁₄-Aryl)], –NH₂ oder Halogen bedeutet; worin Alkyl, Alkenyl und Aryl weiter substituiert sein können
5 durch –CN, –Amid oder –Oxim-Funktionen,

X¹

=CH₂ oder =O bedeutet,

10 X², X³ und X⁴ unabhängig voneinander

=O, =NR¹ oder =S bedeutet,

oder eine stereoisomere Form der Verbindung der Formel (I) oder ein Gemisch von Stereoisomeren einer Verbindung der Formel (I) in jedem Verhältnis, oder ein
15 physiologisch verträgliches Salz einer Verbindung der Formel (I) oder ein physiologisch verträgliches Salz einer stereoisomeren Form einer Verbindung der Formel (I).

C₁-C₆-Alkyl bedeutet ein geradkettiges oder verzweigtes Alkyl mit 1 bis 6 C-Atomen,
20 bevorzugt mit 1 bis 4 C-Atomen, z.B. Methyl, Ethyl, i-Propyl, tert. Butyl und Hexyl.

C₂-C₆-Alkenyl bedeutet ein geradkettiges oder verzweigtes Alkenyl mit 2 bis 6 C-Atomen, das einfach, zweifach oder dreifach ungesättigt ist, z.B. Allyl, Crotyl, 1-Propenyl, Penta-1,3-dienyl und Pentenyl.

25 C₂-C₆-Alkynyl bedeutet ein geradkettiges oder verzweigtes Alkynyl mit 2 bis 6 C-Atomen, das einfach oder zweifach ungesättigt ist, z.B. Propinyl, Butinyl und Pentinyl.

30 C₅-C₁₄-Aryl bedeutet einen aromatische Rest mit 5 bis 14 C-Atomen, vorzugsweise 5 bis 10 C-Atomen, beispielsweise Phenyl, 1-Naphthyl oder 2-Naphthyl, der

unsubstituiert oder substituiert ist durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl, vorzugsweise Methyl, Hydroxy, C₁-C₄-Alkoxy, vorzugsweise Methoxy, oder durch Trifluormethyl.

Aliphatische Acylgruppen $\text{--NH[--C(=O)--(C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl)]}$ enthalten vorzugsweise eine C₁-C₄-Alkylgruppe, beispielsweise Formyl, Acetyl, Propionyl, Butyryl, Hexanoyl, Acryloyl, Crotonoyl, Propioloyl, und können weiter substituiert sein durch Halogen, vorzugsweise Chlor, Brom, Fluor, durch NH₂, und/oder durch $\text{--NH(C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl)}$, vorzugsweise $\text{--NH(C}_1\text{--C}_4\text{--Alkyl)}$, beispielsweise Methyl- oder Ethylamino.

Aromatische Acylgruppen $\text{--NH[--C(=O)--(C}_5\text{--C}_{14}\text{--Aryl)]}$ sind beispielsweise N-Benzoyl oder N-Naphthoyl, und können weiter substituiert sein durch Halogen, vorzugsweise Chlor, Brom, Fluor, durch C₁-C₆-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl, beispielsweise Methyl, durch Hydroxy-, durch $\text{--NH(C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl)}$, vorzugsweise $\text{--NH(C}_1\text{--C}_4\text{--Alkyl)}$, beispielsweise Methyl- oder Ethylamino, oder $\text{--O-C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$, vorzugsweise $\text{--O-C}_1\text{--C}_4\text{--Alkyl}$, beispielsweise Methoxy.

Halogen bedeutet ein Element der 7. Hauptgruppe des Periodensystems, vorzugsweise Chlor, Brom, Fluor.

R¹ ist vorzugsweise H.

R² ist vorzugsweise C₅-C₁₄-Aryl, besonders bevorzugt C₅-C₁₀-Aryl, speziell bevorzugt Phenyl, unsubstituiert oder substituiert durch (R³)_n. Besonders bevorzugt ist R² Phenyl oder ein 3,4-Dihydroxyphenyl-Rest.

R³ ist vorzugsweise OH.

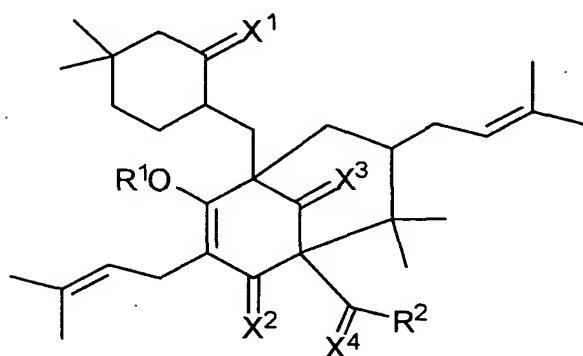
n ist vorzugsweise 1 oder 2.

X¹ ist vorzugsweise =CH₂.

X², X³ und X⁴ sind vorzugsweise =O.

Die allgemeinen Definitionen der Reste und die bevorzugten Definitionen der Reste R¹, R², R³, X¹, X², X³, X⁴ und n können unabhängig voneinander beliebig miteinander kombiniert werden.

Tautomere Formen der Verbindung der Verbindung (I) sind beispielweise Verbindungen der Formel (I-A)

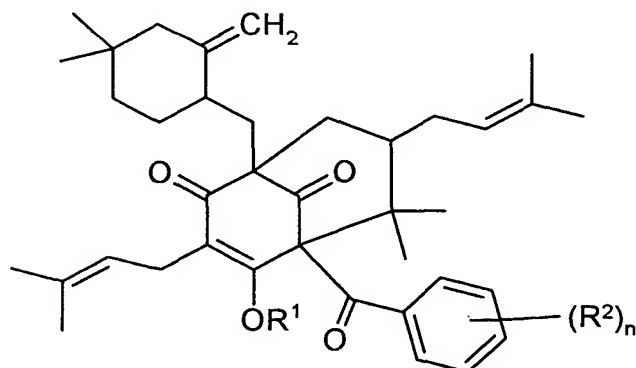


(I-A)

5

wobei die Reste R¹, R², X¹, X², X³ und X⁴ wie oben definiert sind.

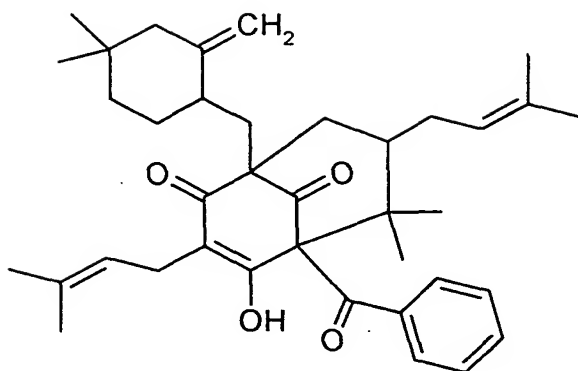
Die Erfindung betrifft vorzugsweise eine Verbindung der Formel (II),



(II)

wobei R¹, R² und n die oben genannten Bedeutungen haben.

Besonders bevorzugt betrifft die Erfindung eine Verbindung der Formel (III), die im
15 folgenden auch als Makandechamon bezeichnet wird:



(III)

Stereoisomere Form bedeutet Enantiomer, Diastereomer und/oder Tautomer.

- 5 Chiralitätszentren in den Verbindungen der Formel (I), (I-A), (II) und (III) können in der R- oder in der S-Konfiguration vorliegen. Die Erfindung betrifft sowohl die optisch reinen Verbindungen als auch Stereoisomerengemische, wie Enantiomerengemische und Diastomerengemische, in jedem Verhältnis.

- 10 Die erfindungsgemäßen Verbindungen unterscheidet sich von literaturbekannten Substanzen beispielsweise durch die Polarität, ihre chemische Struktur oder ihre antimikrobiellen Wirksamkeit oder weitere physikalischen Eigenschaften.

- 15 Die Erfindung betrifft weiterhin offensichtliche chemische Äquivalente der Verbindungen der Formeln (I), (II) oder (III). Offensichtliche chemische Äquivalente der erfindungsgemäßen Verbindungen sind Verbindungen, die die gleiche Wirksamkeit wie die erfindungsgemäßen Verbindungen haben und einen geringfügigen chemischen Unterschied aufweisen oder sich unter milden Bedingungen in die erfindungsgemäßen Verbindungen umwandeln. Zu den
- 20 genannten Äquivalenten gehören z.B. Ester, Azomethine (Schiff'sche Basen), Ketale, Oxime, Hydrierungsprodukte, Reduktionsprodukte, Komplexe oder Addukte der bzw. mit den erfindungsgemäßen Verbindungen.

- 25 Die Erfindung betrifft desweiteren Makandechamon, eine Verbindung der Summenformel $C_{38}H_{50}O_4$, nachgewiesen durch ESI-Spektroskopie, und charakterisiert durch die 1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Daten gemäß Tabelle 2 (siehe

unten), oder eine stereoisomere Form der Verbindung Makandechamon oder ein Gemisch der jeweiligen vorgenannten Formen in jedem Verhältnis, oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung Makandechamon oder einer stereoisomeren Form der Verbindung Makandechamon.

5

Ferner betrifft die Erfindung eine Verbindung der Summenformel $C_{38}H_{50}O_4$ (Makandechamon) erhältlich durch Extraktion von Blättern der Pflanze *Garcinia punctata* oder eine Variante und/oder Mutante von *Garcinia punctata* und anschließender Isolierung, sowie gegebenenfalls Überführung in ein

10

Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel (I) oder eines pharmakologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel (I), dadurch gekennzeichnet, dass

15

- (a) Teile der Pflanze *Garcinia punctata* oder eine Variante und/oder Mutante von *Garcinia punctata* extrahiert wird,
- (b) eine Verbindung der Formel (III) isoliert und gegebenenfalls gereinigt wird,
- (c) die Verbindung der Formel (III) gegebenenfalls zu einer Verbindung der Formel (I) derivatisiert wird, und
- (d) die Verbindung der Formel (I) gegebenenfalls in ein pharmakologisch

20

verträgliches Salz überführt wird.

25

Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel (III) oder eines pharmakologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel (III), dadurch gekennzeichnet, dass

- (a) Teile der Pflanze *Garcinia punctata* oder eine Variante und/oder Mutante von *Garcinia punctata* extrahiert wird,
- (b) eine Verbindung der Formel (III) isoliert und gegebenenfalls gereinigt wird,
- (c) die Verbindung der Formel (III) gegebenenfalls in ein pharmakologisch

30

verträgliches Salz überführt wird.

Vorzugsweise wird Makandechamon der Formel (III) nach ansich bekannten Methoden zu einer Verbindung der Formel (I) verestert und/oder einfach oder

mehrfach hydriert. Bei Veresterungen kann die Hydroxygruppe von Makandechamon, die Teil eines vinylogenen Esters ist, beispielsweise mit einem Alkylierungsmittel, wie z.B. Diazomethan oder Trimethylsilyldiazomethan verestert. Hydrierungen von werden einer oder mehreren Doppelbindungen und/oder

- 5 Carbonylgruppen der Verbindung der Formel (I) können mit einem Reduktionsmittel reduziert werden, wobei Doppelbindungen zum Beispiel mit H_2/Pd und Carbonylgruppen zum Beispiel mit $NaBH_4$ reduziert werden. Die oben genannten Methoden zur Derivatisierung sind in Lehrbüchern wie Jerry March, *Advanced Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, 4th Edition, 1992, beschrieben. Um
- 10 Umsetzungen selektiv durchzuführen, kann es vorteilhaft sein, in ansich bekannter Weise vor der Reaktion geeignete Schutzgruppen einzuführen. Die Schutzgruppen können nach der Reaktion abgespalten werden.

Die Extraktion der erfindungsgemäßen Verbindungen kann entsprechend dem

- 15 Fachmann bekannten Methoden, wie z.B. durch Austestung der biologischen Aktivität in Bioassays oder durch chromatographische Methoden wie Dünnschichtchromatographie (DC) oder Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) verfolgt werden.

- 20 *Garcinia punctata* ist ein immergrüner Baum aus der Familie der Clusiaceae. Verbreitungsgebiet der Clusiaceae sind die gemäßigten und tropischen Regionen, es finden sich zahlreiche tropische Heil- und Nutzpflanzen in dieser Familie. Die Verbreitung von *Garcinia punctata* beschränkt sich im wesentlichen auf die westafrikanische Region, die mit der Nummer PLA 100848 versehene Pflanze von
- 25 *Garcinia punctata* wurde in Gabun in unmittelbarer Nähe der Station La Makandé Research Field Station (Koordinaten $0^\circ 40' 860''$ S - $11^\circ 54' 750''$ E) gesammelt. *Garcinia punctata* besitzt einfache gegenständige Blätter und enthält orange bis rot gefärbten Latex. Die Blüten sind gelb oder weiß. Die Probe PLA 100848, aus der die Verbindung Makandechamon isoliert wurde, stammt aus dem Bereich der
- 30 Baumkrone.

Das Screening nach Mutanten und Varianten, die das erfindungsgemäße Antibiotikum produzieren, kann durch Bestimmung der biologischen Aktivität in den

Extrakten angehäuften Wirkstoffes, beispielsweise durch Bestimmung der antibakteriellen Wirkung erfolgen, oder durch Detektion von Verbindungen, die als antibakteriell aktiv bekannt sind, in den Extraktendurch beispielsweise HPLC -oder LC-MS-Methoden.

5

Das besagte Verfahren umfasst die Extraktion von allen Teilen der Pflanze *Garcinia punctata*, vorzugsweise den Blättern. Die Verbindung Makandechamon kommt insbesondere in den Blättern der Pflanze *Garcinia punctata* vor, und wird vorzugsweise aus getrockneten Blättern gewonnen. Zur Familie der Clusiaceae gehören zahlreiche Heil- und Nutzpflanzen. Die Pflanzen sind in den gemäßigten und tropischen Klimaten weit verbreitet.

10

Die getrockneten und fein gemahlenen Blätter werden mit einem organischen Lösemittel, zum Beispiel Methanol oder Propanol-2 extrahiert, optional im Gemisch mit Wasser oder einem wässrigen Puffer.

15

Die Extraktion kann in einem weiten pH -Bereich durchgeführt werden, es ist jedoch zweckmäßig, im neutralen oder schwach sauren Milieu, vorzugsweise zwischen pH 3 und pH 7 zu arbeiten. Der Extrakt kann z.B. im Vakuum konzentriert und getrocknet werden.

20

Zur Isolierung von Makandechamon können auch Pflanzen derselben Gattung verwendet werden, die an einem anderen Standort gesammelt wurden. Der Gehalt an Makandechamon kann je nach Standortverhältnissen, wie z.B.

25

Bodenbeschaffenheit, Lichteinfall, Temperatur, Feuchtigkeit oder Lichteinfall variieren.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann für die Extraktion und Isolierung im Labormaßstab (100 g bis 1 kg trockene Pflanzenmasse) und im industriellen Maßstab (100 bis > 1000 kg) eingesetzt werden.

30

Die Kultivierung der Pflanzen kann im Freiland oder vorzugsweise im Gewächshaus erfolgen, alternativ können pflanzliche Zellkulturen zur Produktion der Metabolite eingesetzt werden. In der Regel kultiviert man dazu in mehreren Stufen, d.h. man

stellt zunächst eine oder mehrere Vorkulturen in einem geeigneten Flüssigmedium her, mit denen dann die Hauptkultur, beimpft werden kann. Das Ausgangsmaterial besteht in der Regel aus Kalluskulturen. Durch die Auswahl geeigneter Bioreaktoren zur Züchtung der pflanzlichen Zellkultur kann eine optimale Durchmischung und

5 Belüftung der Kultur ohne die Einwirkung von zu starken Scherkräften auf die Pflanzenzellen und damit optimales Zellwachstum und Metabolit-Produktion erzielt werden. Beispielsweise können Airlift- oder Blasensäulenreaktoren, sowie Blatt- oder Propellerrührwerke zur Durchmischung der Kulturen eingesetzt werden. Die Zellen können als Einzelzellen bzw. verzweigte oder unverzweigte Zell-Aggregate oder

10 -ketten wachsen. Die Metabolitproduktion kann durch Stimulation mit exogenen Faktoren, z.B. Schwermetallsalzen oder pflanzlichen Elicitoren induziert werden.

Die Produktbildung in der Pflanzenzellkultur kann anhand des pH-Wertes der Kulturen sowie durch chromatographische Methoden, wie z.B.

15 Dünnschichtchromatographie, HPLC oder Ausprüfen der biologischen Aktivität überwacht werden. Die erfindungsgemäße Verbindung Makandechamon kann neben den Blättern auch in anderen Pflanzenteilen enthalten sein. Das im folgenden beschriebene Isolierungsverfahren dient zur Aufreinigung der erfindungsgemäßen Verbindung Makandechamon.

20 Die Isolierung bzw. Aufreinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen aus der Pflanze oder dem Kulturmedium erfolgt nach bekannten Methoden unter Berücksichtigung der chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften der Naturstoffe. Zum Testen der Konzentration der gewünschten Verbindung im

25 Ausgangsmaterial oder in den einzelnen Isolierungsstufen kann die HPLC verwendet werden, wobei die Menge der gebildeten Substanz zweckmäßig mit einer Eichlösung verglichen wird.

30 Zur Isolierung von Makandechamon werden die Blätter der Pflanze geerntet und noch in frischem Zustand oder getrocknet nach den üblichen Verfahren extrahiert und anschließend wird Makandechamon aus dem Pflanzenmaterial mit einem gegebenenfalls wasserhaltigem organischen Lösungsmittel extrahiert. Die organische Lösungsmittelphase enthält das erfindungsgemäße Makandechamon, es wird gegebenenfalls im Vakuum konzentriert und weiter aufgereinigt.

Eine weitere Methode der Reinigung ist die Chromatographie an Adsorptionsharzen wie z.B. an Diaion® HP-20 (Mitsubishi Casei Corp., Tokyo), an Amberlite® XAD 7 (Rohm and Haas, USA), an Amberchrom® CG, (Toso Haas, Philadelphia, USA) oder an ähnlichen. Geeignet sind darüber hinaus zahlreiche Reversed- Phase Träger, z.B. RP₈ und RP₁₈, wie sie z.B. im Rahmen der Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) allgemein bekannt geworden sind.

Eine weitere Reinigungsmöglichkeit für die erfindungsgemäße Verbindung besteht in der Verwendung von sogenannten Normal-Phasen-Chromatographie-Trägern, wie z.B. Kieselgel oder Al₂O₃ oder anderen in an sich bekannter Weise.

Ein alternatives Isolierungsverfahren ist die Verwendung von Molekularsieben, wie z.B. Fractogel® TSK HW-40 (Merck, Deutschland) und andere, in an sich bekannter Weise. Es ist darüber hinaus auch möglich, aus angereichertem Material das Makandechamon durch Kristallisation zu gewinnen. Geeignet hierzu sind z.B. organische Lösemittel und ihre Gemische, wasserfrei oder mit Wasserzusatz. Ein zusätzliches Verfahren zur Isolierung und Reinigung der erfindungsgemäßen Antibiotika besteht in der Verwendung von Anionenaustauschern, vorzugsweise im pH-Bereich von 4 bis 10 und Kationenaustauschern vorzugsweise im pH-Bereich von 2 bis 5. Besonders geeignet ist hierfür die Verwendung von Pufferlösungen, denen man Anteile von organischen Lösungsmitteln hinzugefügt hat.

Die Verbindungen der Formel (I), (II) und (III) können nach dem Fachmann bekannten Methoden in pharmakologisch verträgliche Salze überführt werden. Unter pharmakologisch verträglichen Salzen der erfindungsgemäßen Verbindungen versteht man sowohl anorganische als auch organische Salze, wie sie in Remingtons Pharmaceutical Sciences (17. Auflage, Seite 1418 [1985]) beschrieben sind. Als Salze kommen insbesondere Alkali-, Ammonium-, Erdalkalisalze, Salze mit physiologisch verträglichen Aminen und Salze mit anorganischen oder organischen Säuren wie z.B. HCl, HBr, H₂SO₄, Maleinsäure, Fumarsäure in Frage.

Es wurde überraschend gefunden, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) antibakterielle Wirkungen aufweisen, insbesondere gegen

humanpathogene Keime, und sich daher zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Erkrankungen eignen, die durch bakterielle Infektionen verursacht werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die Verwendung einer oder mehrerer
 5 der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I), (II) und/oder (III) als Arzneimittel, insbesondere zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Infektionen.

Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung einer oder mehrerer der
 10 erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I), (II) und/oder (III) zur Herstellung von Arzneimitteln, insbesondere zur Behandlung und/oder zur Prophylaxe von bakteriellen Infektionen.

Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung ein Arzneimittel mit einem Gehalt an mindestens einer Verbindung der Formel (I), (II) und/oder (III).

15

Das besagte Arzneimittel enthaltend eine Verbindung der Formel (I), (II) und/oder (III) wird mit einem oder mehreren physiologisch geeigneten Hilfsstoffen hergestellt und in eine geeignete Darreichungsform gebracht.

20 Die erfindungsgemäßen Arzneimittel können enteral (oral), parenteral (intramuskulär oder intravenös), rektal oder lokal (topisch) angewendet werden. Sie können in Form von Lösungen, Pulvern (Tabletten, Kapseln einschließlich Mikrokapseln), Salben (Cremes oder Gel), oder Suppositorien verabreicht werden. Als physiologisch
 geeignete Hilfsstoffe für derartige Formulierungen kommen die pharmazeutisch
 25 üblichen flüssigen oder festen Füllstoffe und Streckmittel, Lösemittel, Emulgatoren, Gleitstoffe, Geschmackskorrigentien, Farbstoffe und/oder Puffersubstanzen in Frage. Als zweckmäßige Dosierung werden 0.1 - 1000, vorzugsweise 0.2 - 100 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Sie werden zweckmäßig in Dosierungseinheiten verabreicht, die mindestens die wirksame Tagesmenge der
 30 erfindungsgemäßen Verbindungen, z.B. 30 - 3000, vorzugsweise 50 - 1000 mg enthalten.

Die folgenden Beispiele sollen der näheren Erläuterung der Erfindung dienen, ohne die Breite der Erfindung in irgendeiner Weise zu begrenzen.

Beispiel 1 Herstellung des Rohextraktes der Pflanze *Garcinia punctata*,
PLA-100848

- 5 Blätter von *Garcinia punctata*, PLA-100848, wurden im frischen Zustand gesammelt und bei maximal 40°C luftgetrocknet. 100 g Trockenmaterial wurden fein gemahlen und mit 1 L Methanol für mindestens 8h unter Rühren extrahiert. Der Extrakt wurde abfiltriert und anschließend unter Vakuum bis nahezu zur Trockene aufkonzentriert. Der Rückstand wurde mit Wasser resuspendiert und gefriergetrocknet. Der so
- 10 hergestellte Primärextrakt kann bei 4°C oder –20°C aufbewahrt werden oder zur weiteren Isolierung wie in Beispiel 2 beschrieben verwendet werden. Zum Testen der biologischen Aktivität wurden zunächst aus dem Primärextrakt mittels Chromatographie an Polyamid und Polystyrol-Adsorberharz Tannine sowie andere stark hydrophile bzw. lipophile Störsubstanzen entfernt.

15

Beispiel 2: Isolierung und Reinigung der Verbindung Makandechamon.

- 1 g des angereicherter Rohextrakt von Makandechamon, gewonnen nach Beispiel 1, wurden in 5 mL Methanol gelöst und zentrifugiert und der Überstand auf einer
- 20 LUNA® 10 µm C 18(2)-HPLC-Säule (Phenomenex, USA) (Breite x Höhe = 2.1 cm x 25 cm) im Gradientenverfahren mit 5 % bis 95 % Acetonitril in 0.1 % Ammoniumacetat pH 4,5 aufgetrennt. Fluß: 33 mL/Min. Fraktionsgröße: 33 mL. Die durch analytische HPLC (siehe Beispiel 3) untersuchten Fraktionen 44 und 45 wurden gesammelt und gefriergetrocknet. Sie ergaben 15 mg Makandechamon in
- 25 95%iger Reinheit.

Beispiel 3: Pflanzenproduktion, Sammeln der Samen, Aussaat und Wachstums- sowie Produktionsbedingungen

- 30 Die Samen von *Garcinia punctata*, PLA 100848, wurden nach der Reifung gesammelt und zur weiteren Anzucht der Pflanzen im Gewächshaus ausgesät. Die optimale Temperatur betrug ca. 28° C bei einer Luftfeuchtigkeit von 70-90%. Die Pflanzen wurden mehrere Monate bis Jahre kultiviert, bis zur Ernte der Blätter oder anderer geeigneter Pflanzenteile.

Beispiel 4: Analytische HPLC

5 Säule: Purospher® STAR RP-18 e 3 µm, 30-2, (Merck, Deutschland)

Mobile Phase Puffer A: 5 % Acetonitril + 0.1% Ammoniumacetat,

Mobile Phase Puffer B: 95 % Acetonitril + 0.1% Ammoniumacetat,

Gradient: 15 min

10 Flußgeschwindigkeit: 0.25 mL pro Minute

Detektion durch UV-Absorption bei 210 nm.

Für Makandechamon wurde eine Retentionszeit von 8.9 Min. gefunden.

15 Beispiel 5: Charakterisierung von Makandechamon.

Die physikalisch-chemischen sowie spektroskopischen Eigenschaften des erfindungsgemäßen Antibiotikums lassen sich wie folgt zusammenfassen:

20 Aussehen:

Farblose bis hellgelbe, in mittelpolaren und polaren organischen Lösungsmitteln lösliche, in Wasser wenig lösliche Substanz. Stabil in neutralem und saurem Milieu.

Summenformel: $C_{38}H_{50}O_4$

25 Molekulargewicht: 570,82

1H - und ^{13}C -NMR: siehe Tabelle 1

UV-Maxima: 240 nm, 290 nm

Bestimmung des Molpeaks:

30

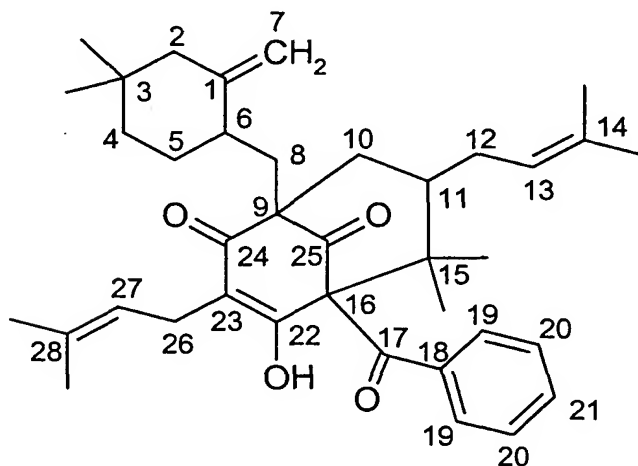
Dem gesuchten Molekül wird die Masse 570 zugeordnet aufgrund folgender Befunde: ESI⁺-Spektrum zeigt einen Peak bei 571 amu (M+H)⁺,

MS/MS ESI⁺: 447 amu (M+H)⁺, 435 amu, 379 amu, 311 amu, 255 amu, 177 amu, 105 amu

Hochauflösung des Quasi-Moleküliions: ESI⁺ 571,3783 (M+H)⁺. Für die

5 Summenformel C₃₈H₅₀O₄ wurde 5713782, berechnet.

Tabelle 1: ¹H- und ¹³C-NMR-chemische Verschiebungen von Makandechamon in MeOD bei 303 K.



10

| | ¹ H | ¹³ C |
|-------|----------------|-----------------|
| 1 | - | 151.79 |
| 2 | 2.04/1.66 | 49.0 |
| 3 | - | 33.52 |
| 3-Me | 0.84 | 29.20 |
| 3-Me' | 0.83 | 28.31 |
| 4 | 1.49/1.17 | 38.59 |
| 5 | 1.55/1.31 | 31.18 |
| 6 | 2.37 | 40.04 |
| 7 | 4.62/4.53 | 108.31 |
| 8 | 2.10/1.98 | 34.59 |
| 9 | - | ~ 61.5 a) |
| 10 | 2.00/1.42 | 45.06 |
| 11 | 1.70 | 44.11 |

| | | |
|--------|-----------|-----------|
| 12 | 2.11/1.71 | 28.31 |
| 13 | 4.99 | 124.00 |
| 14 | - | 134.17 |
| 14-Me | 1.68 | 25.98 |
| 14-Me' | 1.58 | 17.97 |
| 15 | - | ~ 49.0 |
| 15-Me | 1.34 | 24.56 |
| 15-Me' | 1.10 | 16.23 |
| 16 | - | ~ 77.6 a) |
| 17 | - | 195.20 |
| 18 | - | 138.70 |
| 19 | 7.64 | 129.63 |
| 20 | 7.28 | 128.83 |
| 21 | 7.46 | 133.05 |
| 22 | - | b) |
| 23 | - | 120.30 |
| 24 | - | b) |
| 25 | - | 209.88 |
| 26 | 3.20/3.07 | 22.42 |
| 27 | 5.09 | 121.95 |
| 28 | - | 133.46 |
| 28-Me | 1.68 | 18.15 |
| 28-Me' | 1.66 | 26.09 |

a) Für dieses C-Atom wird im ^{13}C -Spektrum kein Signal beobachtet. Die Zuordnung erfolgte anhand von Korrelationen im HMBC-Spektrum.

b) Für dieses C-Atom wird im ^{13}C -Spektrum kein Signal beobachtet.

5

Beispiel 6: Test der antibakteriellen Aktivität

Für einen Test der antibakteriellen Wirkung wurden zunächst Agarplatten mit 2 mL *Staphylococcus aureus* -Einsaat in 200 mL Agarlösung vorbereitet. Makandechamon

wurde in einer 1 mg/ml Lösung auf Antibiotika-Testblättchen (Schleicher und Schüll) mit einem Durchmesser von 6 mm aufgetragen und auf die Agarplatte gelegt. Die beimpften *Staphylococcus*-Platten wurden 16 Stunden bei 37°C inkubiert. Dann wurden Hemmhöfe mit folgenden Durchmessern (mm) beobachtet:

5

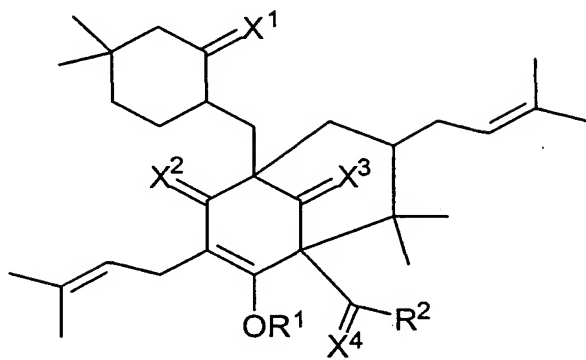
| Menge | Hemmhofgröße (mm) |
|-------|-------------------|
| 10 µL | 7 |
| 20 µL | 12 |
| 40 µL | 14 |

Patentansprüche:

DEAV2002/0061

1. Verbindung der Formel (I)

5



(I)

wobei

10 R¹

H, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, oder C₅-C₁₄-Aryl bedeutet, worin Alkyl, Alkenyl, Alkynyl und Aryl unsubstituiert oder ein- bis dreifach durch einen Rest R³ substituiert sind,

15 R²

C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, oder C₅-C₁₄-Aryl bedeutet, worin Alkyl, Alkenyl, Alkynyl und Aryl unsubstituiert oder n-fach durch einen Rest R³ substituiert sind, wobei n eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist, und

20 R³

-OH, =O, -O-C₁-C₆-Alkyl, -O-C₂-C₆-Alkenyl, -O-C₅-C₁₄-Aryl, -NH-C₁-C₆-Alkyl, -NH-C₂-C₆-Alkenyl, -NH[-C(=O)-(C₁-C₆-Alkyl)], -NH[-C(=O)-(C₅-C₁₄-Aryl)], -NH₂ oder Halogen bedeutet, worin Alkyl, Alkenyl und Aryl weiter substituiert sein können durch -CN, -Amid oder -Oxim-Funktionen,

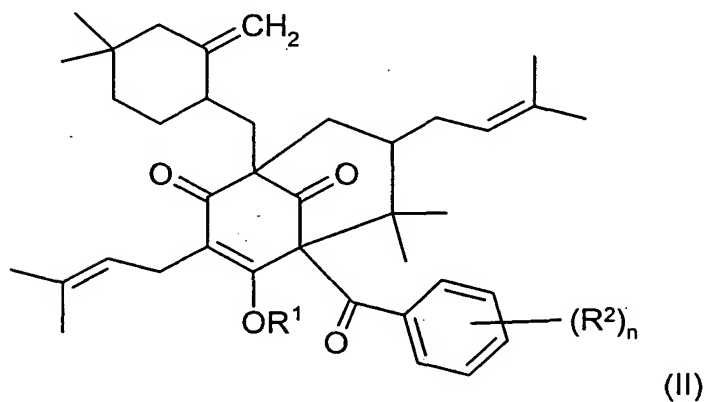
25

X¹=CH₂ oder =O bedeutet,X², X³ und X⁴ unabhängig voneinander5 =O, =NR¹ oder =S bedeutet,

oder eine stereoisomere Form der Verbindung der Formel (I) oder ein Gemisch von Stereoisomeren einer Verbindung der Formel (I) in jedem Verhältnis, oder ein physiologisch verträgliches Salz einer Verbindung der Formel (I) oder ein
10 physiologisch verträgliches Salz einer stereoisomeren Form einer Verbindung der Formel (I).

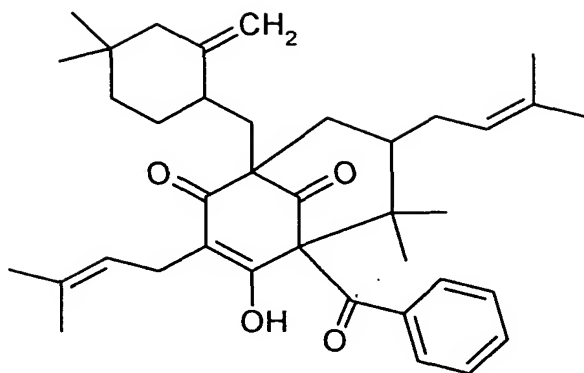
2. Verbindung der Formel (I) gemäß Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Verbindung der Formel (II)

15



3. Verbindung der Formel (I) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 2, gekennzeichnet durch eine Verbindung der Formel (III)

20



(III)

4. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I) gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß

- 5 (a) Teile der Pflanze *Garcinia punctata* oder eine ihrer Varianten und/oder Mutanten extrahiert wird,
- (b) eine Verbindung der Formel (III) isoliert und gegebenenfalls gereinigt wird,
- (c) die Verbindung der Formel (III) gegebenenfalls mit einem geeigneten Reagenz in eine Verbindung der Formel (I) derivatisiert wird,
- 10 (d) und die Verbindung der Formel (I) gegebenenfalls in ein pharmakologisch verträgliches Salz überführt wird.

5. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (III) gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß

- 15 (a) Teile der Pflanze *Garcinia punctata* oder eine ihrer Varianten und/oder Mutanten extrahiert wird,
- (b) eine Verbindung der Formel (III) isoliert und gegebenenfalls gereinigt wird, und
- (c) die Verbindung der Formel (III) gegebenenfalls in ein pharmakologisch verträgliches Salz überführt wird.

20

6. Verwendung einer Verbindung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels.

7. Verwendung einer Verbindung gemäß Anspruch 6 zur Herstellung eines

- 25 Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Infektionen.

8. Arzneimittel mit einem Gehalt an mindestens einer Verbindung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 und einem oder mehreren physiologisch geeigneten Hilfsstoffen.

- 5 9. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine Verbindung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 19 mit einem oder mehreren physiologisch geeigneten Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform gebracht wird.

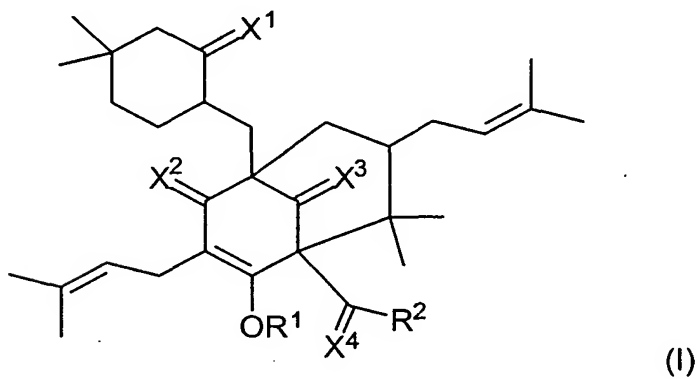
Zusammenfassung:

DEAV2002/0061

Polyisoprenyl-benzophenon-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und Verwendung derselben

5

Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I)



- 10 die von der Pflanze *Garcinia punctata* produziert werden, davon abgeleitete chemische Derivate, ein Verfahren zu deren Herstellung, und deren Verwendung als Arzneimittel, insbesondere zur Behandlung und/oder Prophylaxe von bakteriellen Infektionskrankheiten.